

走査型電子顕微鏡とコンピュータ・ソフトウェアを用いた 立体的解剖組織学教育の試み

直 良 博 之
(健康栄養学科)

Scanning electron microscope and computer software for the understanding of
three-dimensional anatomical and histological structures

Hiroyuki NAORA

キーワード：走査型電子顕微鏡 Scanning electron microscope
立体構造 Three-dimensional structure
解剖学 Anatomy 組織学 Histology

1. はじめに

本学栄養士養成課程において専門基礎科目に位置づけられる解剖学、解剖組織学実験においては、人体における生命（健康）維持に関わる器官系、臓器、組織および細胞の構造・機能について、応用可能な知識を修得する事を目的としている。その際、人体および組織構造の立体的なイメージを持つ事が望まれる。例えば、異なる器官系に属する食道と気管が近接して存在し様々な影響を及ぼしあう状況や、食物の誤嚥が生じた場合の炎症をおこしやすい肺区画などを学ぶ場合などにおいて、臓器の相対的な位置関係やそれぞれの立体的形状を理解する必要がある。また、組織学においても、臓器の機能を担う細胞の配列が重要な意味を持つ場合が多い。腎機能の単位であるネフロン構造や、肝小葉における肝細胞の配列などはその典型例である。

一方で、学生がこれら臓器や組織の立体的構造を学習する際、困難を伴う場合が多い。その理由とし

ては1)教科書やプリントに示された図は一方向から描かれたものが多く、立体的な形状を正確に図で表す事が難しい、2)実習などで観察した立体的臓器も、スケッチや写真等では平面的な2次元の記録となる、3)組織標本は染色された組織切片として顕微鏡で観察するため立体情報が失われる、といった理由が挙げられる。

そこで、これまで人体や組織の立体的構造を理解させるため、様々な取り組みが行われてきている。人体模型や組織模型といった、実物の立体構造を再現したものに加えカラー透過図を多用した教科書¹⁾、ステレオ写真を用いたアトラス²⁾などがある。また組織学においては組織切片や透過型電子顕微鏡の2次元像を補足する形で組織の立体的な模式図、走査型電子顕微鏡（SEM）による組織の表面像や断面像が用いられている³⁾。

本稿では、筆者がこれまで本学で取り組んできた解剖組織学教育において、特に立体構造の理解のた

めに導入してきたSEMおよびコンピュータ・ソフトウェア等の利用と、その教育効果について述べる。

2. 立体的解剖組織学教育に用いてきた機器およびコンピュータ・ソフトウェア

1) 走査型電子顕微鏡

明石走査電子顕微鏡 ALPHA-25A（明石ビームテクノロジー株式会社）

日立卓上顕微鏡 Miniscope TM-1000（日立ハイテク）

2) コンピュータ・ソフトウェア

A.D.A.M. Interactive Anatomy, Adam com

Visible Body 3D Human Anatomy Atlas2, Argosy Publishing, Inc

Visible Body 3D Muscle Premium 2, Argosy Publishing, Inc

3) 人体模型

人体臓器模型 Torso-Modell AS 20/1, SOMSO

人体骨格模型 A10, 3B Scientific

3. 講義および実験におけるコンピュータ・ソフトウェアの利用

解剖学の講義においては2011年度からVisible Body 3D (Human Anatomy2 および Muscle Premium2) を利用している。それ以前はA.D.A.M. Interactive Anatomyを利用していたが、このソフトウェアは、臓器や骨格などが描かれたレイヤーが積み重なって表示されるものであり、人体表面から深部へ臓器を順に表示して行くのには適しているが、基本的には平面的な「絵」であり自由度に乏しい。一方、Visible Body 3Dは、臓器や骨格などを任意に拡大・縮小・回転・消去・半透明表示ができる。また特定の骨などを強調表示することも可能であり、構造の立体構造を極めて分かりやすく提示する事ができる(図1)。

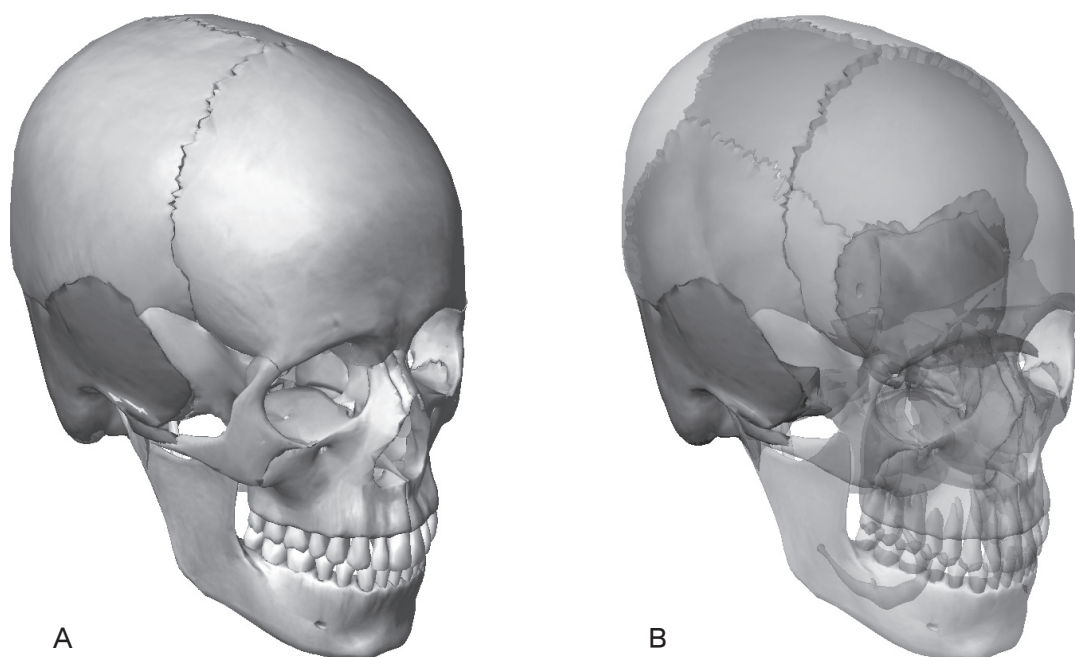


図1 Visible Body 3D Human Anatomy Atlas2 (Skeletal) で表示した側頭骨

A：側頭骨を強調表示，B：側頭骨以外を半透明表示

2011年度は、インターネット接続が必要なオンライン版を利用していたため利用する環境が制限されていたが、2012年度からはタブレット型端末 (iPad2, Apple Inc) で使えるようになったため講義室や実験室での持ち運びが容易になった。実験においては次のような課題を与える。

「Visible bodyのDigestive (消化器) を選択し、肝臓, 胆嚢, 膵臓, 十二指腸の位置関係, つながり方がもっとも良く分かるアングルを表示し、スクリーンショットを撮影する」

この課題について4人一組で取り組み、撮影したスクリーンショットを印刷し、レポートに貼り付け、説明を書き加える。その提出例を二つ、図2に示す。

コンピュータ上で臓器を回転させながら表示、非表示などの試行錯誤を繰り返す過程で臓器の立体的な位置関係を理解してくれる事を期待している。またレポートに貼り付けたスクリーンショットを何度も見返す事で、その理解を定着させる事を意図している。同じ部位を人体模型でも確認させ、複雑だが重要な、肝・胆・膵の立体的な位置関係をイメージとして理解できるようにしている。

次に、心臓の構造理解のためVisible Body 3Dを利用した例を示す。心臓は左右の心房・心室から成る比較的単純な構造を持つが、肺循環および体循環の概念と実際の構造との関連、ガス交換を行う肺とのつながり方はやや複雑である。また胎児循環と生

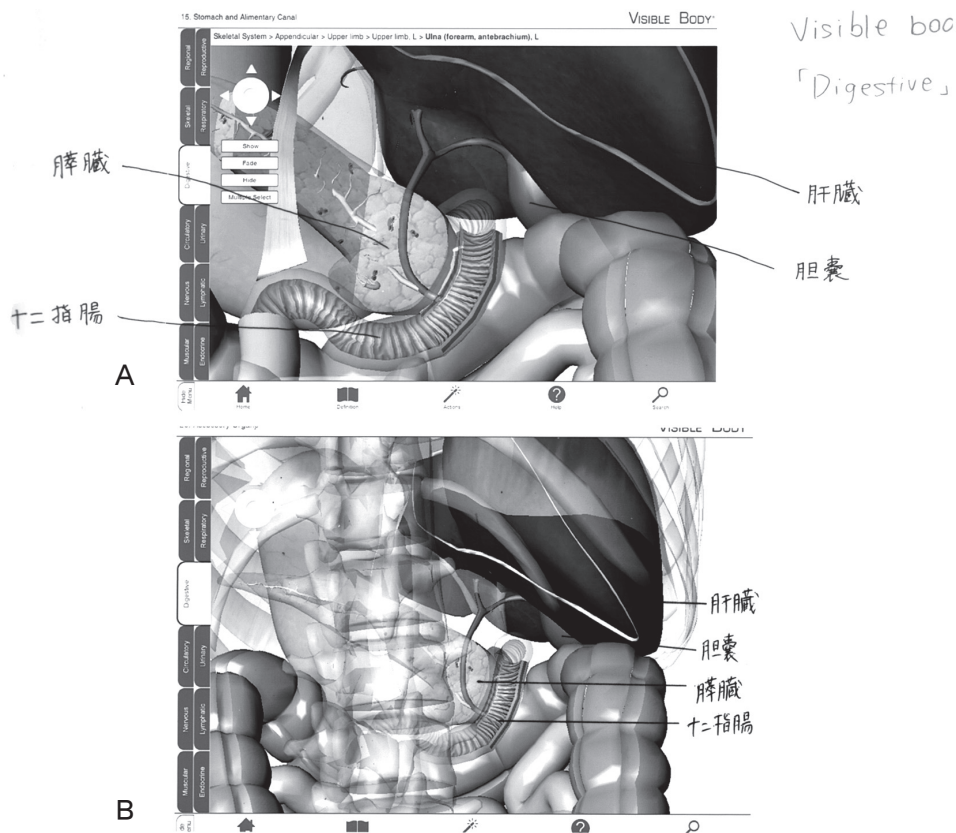


図2 学生が作成した、肝臓, 胆嚢, 膵臓, 十二指腸の位置関係を示す Visible Body 3Dのスクリーンショットとその説明

A: 大十二指腸乳頭を中心に示した例

B: 背側から低倍率で示した例

Bの図は半透明の脊柱でやや見にくいですが、背側から見た図であることがよく分かる。

後循環の変化を理解するためには機能的には区別される左心房と右心房、大動脈と肺動脈の立体的な位置関係をイメージできる必要がある。そのため実験では以下の課題を与えている。

「全身から静脈血が帰ってくる→右心房から右心室に→右心室から肺循環へ→肺から帰ってきた血液が左心房へ→左心房から左心室へ→左心室から大動脈へ」の流れを説明する図を4枚撮影し、連続画像の形で血液の流れを説明する組写真を作る。必要に応じて透明化や消去を使う。スケッチブックに組写真を貼り付け、血液の流れを説明するための書き込みを入れる」

図の作成はグループ単位で行うが、その後の説明、書き込みは学生がそれぞれ行いレポートで提出する。その一例を図3に示す。

レポートとして残るのは平面的な投影図である

が、連続した図を作成する事により疑似的に立体構造を再現する事ができる。心臓の構造についても、人体模型の心臓を実際に手に取らせ確認させているが、肺との位置関係を様々な角度から確認できるのがVisible Body 3Dの便利なところである。

3. 実験における走査型電子顕微鏡 (SEM) の利用

組織学の実験においては、染色された組織切片を光学顕微鏡で観察し、種々の組織構造や細胞を同定したのちスケッチを行う事が基本となる。ただし、切片として組織の断面を観察する事になるので立体的情報は失われてしまう。専門的な研究の場合は連続切片を作成し組織の立体像を再構築することも行われるが、一定の訓練が必要であり、また観察する組織切片の枚数も数十枚から数百枚におよぶため学生実験には適さない。

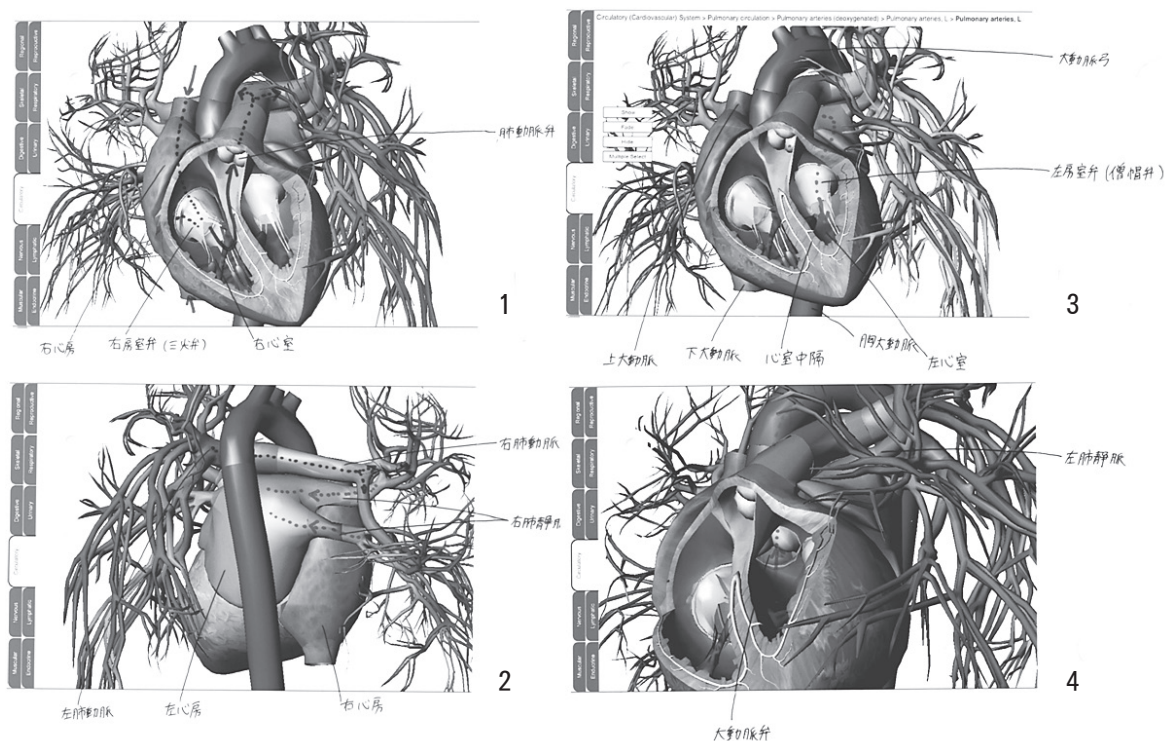


図3 学生が作成した心臓における血液の流れを示した図の一例

心臓の前面を消去し心室、弁が分かりやすく示されている。また2枚目では大きく角度を変え肺動脈および肺静脈と心臓との位置関係を示す工夫がなされている。右心房と大動脈弓の見え方で回転方向がわかる。4枚目ではやや下方からのアングルで大動脈弁が示されている。

そこで組織の表面立体構造を高倍率で観察・記録できるSEM観察を解剖組織学実験に導入している。2009年度以前は、いわゆる通常のSEMとしてALPHA-25Aを利用していた。条件が整えば高解像度のSEM像を得る事が出来たが、問題点として、写真撮影時間が長い（一枚あたり2分程度）、学生が扱うには操作が複雑、老朽化のため故障が多い、といった事があった。特に写真撮影については、撮影の失敗が続くと実習時間内に撮影が終了しない事があり、またポラロイドカメラで撮影するため写真の焼き増しができなかった。

2010年度からは卓上型のSEMである Miniscope TM-1000を導入する事で著しく利便性が高まった。Miniscope は、低真空、非蒸着標本が観察できるのが大きな特徴である。つまり固定された動物などから切り出した臓器や組織を「そのまま」電子顕微鏡で観察できる。それに加え、コンピュータを介してSEMを操作するため、SEM写真が画像ファイルとして記録できるので人数分の印刷が容易である。

SEM観察の導入例を以下に二例示す。骨組織の新陳代謝の概念は栄養土にとって重要性が高い。骨代謝の基本になるのは骨芽細胞による骨形成である。骨芽細胞が、細胞周囲にコラーゲンを分泌し、

石灰化により骨基質が作られると骨芽細胞はその中に埋もれ骨細胞へと分化する。この過程は立体的なものであり、組織切片で理解する事はかなり難しい。そこで組織切片観察と同時に骨表面の骨芽細胞をSEMで観察、写真撮影を行う。その例を図4に示す。

小腸絨毛および絨毛表面に存在する微絨毛は、栄養素の消化吸収を理解するうえでの基本構造であるが、小腸における粘膜ひだ、絨毛、微絨毛の関係は、学生に繰り返し説明してもなかなか理解が得られない事が多い。SEMの利点の一つは、低倍率から高倍率まで連続的に倍率を変化させ観察できる事である。そこで実験では以下の課題を与えている。

「それぞれの消化管（十二指腸、回腸、結腸）を3mm角程度に切りそろえ、内腔側（食べ物と接する側）を上にして木工用ボンドを用いてアルミブロックに貼付ける。その後SEMにてそれぞれの表面が分かる適切な倍率で撮影する。ただし撮影倍率は同一にすること」

「マウス十二指腸のSEM標本を観察し、低倍率で「絨毛」、高倍率で「微絨毛」の写真撮影する。微絨毛の撮影は高倍率なのでピントをしっかりと合わせよう」

写真撮影はVisible Body 3Dの場合と同じく4人

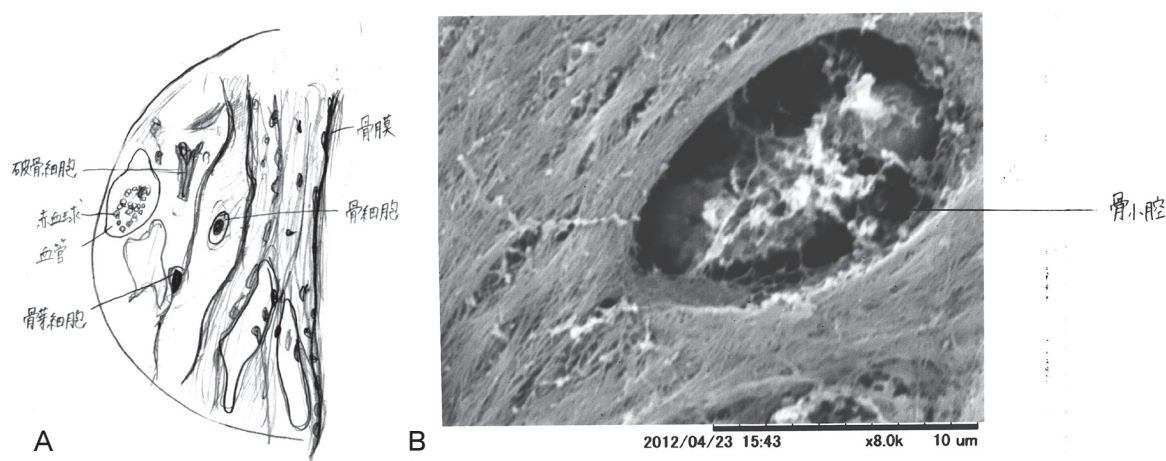
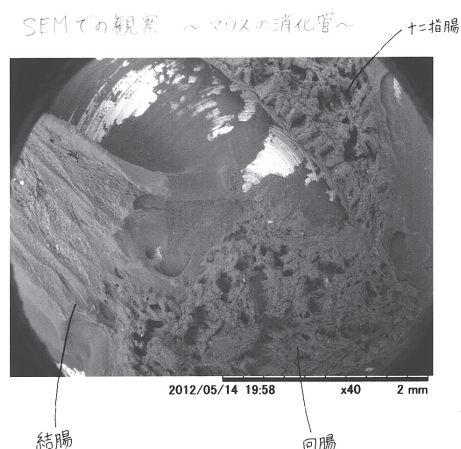


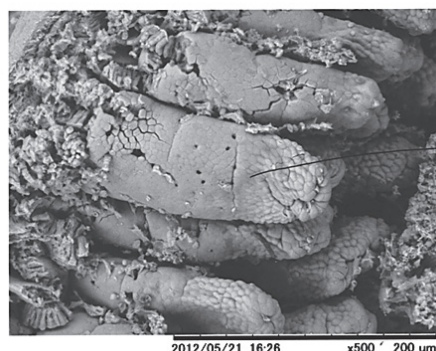
図4 骨組織の組織切片のスケッチと骨芽細胞のSEM像

A：骨組織切片のスケッチ B：骨芽細胞のSEM像

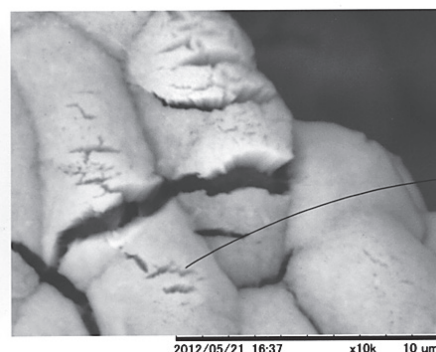
骨芽細胞は細胞周囲に骨基質を作りながらその中に埋もれてゆく。骨細胞の周囲に、細胞が分泌したコラーゲン線維がはっきりと確認できる。細胞の周囲は骨小腔という空間になり、骨細胞と共に基質の中に取り残される。組織切片とSEM像を見比べる事でそれらの立体的な関係がより理解しやすくなる。



A



B



C

図5 マウス小腸絨毛のSEM像

- A：十二指腸，回腸，結腸の粘膜表面（非蒸着標本）
 B：マウス十二指腸絨毛（蒸着標本）
 C：マウス十二指腸微絨毛（蒸着標本） 絨毛表面を覆う吸収上皮細胞の表面に微絨毛が存在する（この写真はピントがあまり合っていない）。
 Bの像からCの像へと連続的に拡大して行くことで絨毛と微絨毛との関係を正確に理解することができる。

組の班単位で行う。レポートとして提出された撮影例を図5に示す。

まずは肉眼で消化管内腔の絨毛を確認した後，観察した臓器をそのままSEM低倍率で観察し，絨毛の大きさについてのイメージを持つ。その後蒸着標本を用いて，絨毛の表面に存在する微絨毛を観察する。絨毛観察→微絨毛観察，を同じ絨毛について連続的に行う事で絨毛と微絨毛の関係を正しく理解してもらうことを意図している。2011年度の実験では3名の学生から，「講義では全然分からなかったが，この観察ではじめて理解できた」という感想を聞かれた。

4. 今後の課題

1) 実験の効率

現在4人1組の実験班を単位としてコンピュータ・ソフトウェアの利用およびSEM観察を行っている。特にSEM観察は標本の中から対象となる組織や細胞を探し出す必要があるので，実験時間内

（実質100分程度）で10班の撮影を終えるのは難しい。そのため実験時間終了後も撮影を続けたり，空いた時間に観察を行っている。この点については，分かりやすいSEM操作マニュアル等を作成する事などである程度は改善する事ができると考える。Visible Body 3Dの利用については，現在1台のタブレット端末を用いているが，今後台数を増やす事により，各班がより時間をかけて利用する事ができるよう改善を進めていきたい。またこれらの端末は他のソフトウェアを導入する事により他の教科や実験でも利用する事ができるので，学科内での共同利用についても検討を進めたい。

2) 立体的解剖組織学教育の評価

解剖学の試験問題として，消化器系および心臓の立体像をVisible Body 3Dから出力し部位の名称や血液の流れに関する問題を出題したところ正答率はおおむね7割程度であった。この出題方法では，教科書に示されている図の穴埋めとは異なり，教科書

とは異なるアングルで示されている構造を立体的に理解していなければ正解しにくいと、教育成果を評価するための一つの方法として継続して行きたい。一方、定期試験による教育成果の評価は難しいところもある。類似の問題を続けて出題すると、いわゆる「過去問」として情報が伝わるため正解率が本来よりも上がる可能性がある。これらの点については、機会を見つけて個別に学生の理解度を確認する、理解が不足している部分は、関連教科で繰り返して説明する、などの取り組みで補って行きたい。

3) 新しい教育媒体の導入

教科書、ノートといった紙媒体の教材はすぐれた媒体である。しかしカラー写真や色図版の使用は、印刷のコストやページ数の制約のため限られている。一方、パーソナルコンピュータ(PC)やタブレット端末などデジタル機器は、教科書と比較すれば無制限と言って良いだけのカラー写真や動画を利用する事ができる。またVisible Body 3Dといった、臓器や器官の形態を3次元の情報として扱うソフトウェアは、特に解剖学教育に関しては画期的なものと評価できる。類似のソフトウェアとしてMRIのデータに基づいた立体表示ソフトウェアや、無料で使えるGoogle Body(現 Zygote Body⁴⁾)なども存在するが、表示の自由度や専門性、価格の点から、現在のところVisible Body 3Dがもっとも優れたソフトウェアであると判断している(Human Anatomy Atlas2:2600円, Muscular Premium:1700円)。ただし、表示や名称が全て英

語のため、教科書に書かれている日本語の名称との対応に不自由を感じる学生もあり、日本語版の追加が望まれる。

これらのソフトウェアで経験したり学んだ内容を記録し、整理するために必要な媒体として、現在もっとも妥当と考えられるのがコンピュータのデータベースであるが、データベースの構築や維持管理には一定の知識が必要となる。画像や動画、電子書籍などが扱える「電子ノート」としての簡易データベースが広く利用できる状況になれば、それらの媒体に移行していく事も有効であると考えられる。現在のところはSEM像やコンピュータソフトによる画像は画像ファイルとしてそれぞれが必要に応じてUSBフラッシュメモリーに保存している。

なお、本稿で使用した学生の提出物は全て本人の了解を得た上で使用している。

5. 引用文献など

- 1) Richard L. Drake, Wayne Vogl, Adam W. M. Mitchell著, 塩田浩平, 瀬口春道, 大谷浩, 杉本哲夫訳,『グレイ解剖学』原著第1版,エルゼビア・ジャパン, 2007
- 2) 横地千仞『3D解剖アトラス』医学書院, 1997
- 3) 牛木辰男, 川上速人, 近藤俊三, 高田邦昭, 花岡和則 著,『走査電顕アトラス マウスの発生』, 岩波書店, 2003
- 4) www.zygotebody.com(利用するにはGoogle chrome等のWebGLに対応したブラウザが必要)

(受付 平成24年11月1日, 受理 平成24年12月3日)

